

Nouveaux dérivés de la morphine-6-glucuronide, compositions pharmaceutiques les contenant, leur procédé de préparation et leurs utilisations

La présente invention a pour objet de nouveaux dérivés de la morphine 6-glucuronide, leur procédé de préparation ainsi que leurs utilisations en thérapie, notamment en tant qu'analgésiques.

La morphine est actuellement l'analgésique le plus utilisé dans le traitement des douleurs de moyenne et de grande intensité. On distingue au niveau du système nerveux central trois classes principales de récepteurs opioïdes : μ (mu), κ (kappa) et δ (delta). La morphine, de même que d'autres opioïdes, produisent leurs principaux effets sur le système nerveux central et le système digestif par l'intermédiaire des récepteurs μ -opioïdes. Il existe deux sous-types de récepteurs μ : le type $\mu 1$ de très haute affinité et faible capacité, et le type $\mu 2$ de basse affinité et forte capacité (Pasternak & Wood, 1986. *Life Sci* 38 :1889-1898). La liaison aux récepteurs $\mu 1$ entraîne une réaction analgésique de type supraspinal et la diminution du *turnover* de l'acétylcholine, tandis que la liaison aux récepteurs $\mu 2$ entraîne une réaction analgésique de type spinal et est responsable de la dépression respiratoire et de l'inhibition du transit intestinal.

Les mécanismes par lesquels la morphine exerce son action analgésique ne sont pas encore complètement élucidés. On sait qu'elle subit un important métabolisme, qui conduit à des métabolites dont certains contribuent à son action analgésique. Le foie apparaît comme le site principal de sa biotransformation. La morphine subit principalement une glucuronidation énantio-sélective catalysée par l'UDP-glucuronyltransférase (UGT) qui conduit à la formation de deux métabolites : la morphine-3-glucuronide (ci-après également désignée « M3G ») et la morphine-6-glucuronide (ci-après également désignée « M6G »).

Il a été démontré que la modification de la position 3-hydroxy de la morphine diminuait l'activité analgésique, alors que des modifications de la position 6-hydroxy peuvent, au contraire, augmenter l'activité analgésique (Aderjan & Skopp, 1998, *Therapeutic Drug Monitoring* 20 :561-569).

Ainsi, la M3G n'a pas d'affinité pour les récepteurs opioïdes et ne participe pas à l'activité analgésique de la morphine.

En revanche, la morphine-6-glucuronide a une forte affinité pour les récepteurs opioïdes et il a été démontré qu'elle a un effet analgésique aussi
5 bien chez les rongeurs que chez l'homme.

La M6G a été décrite comme étant un analgésique plus puissant que la morphine elle-même après une administration centrale (Paul et al, 1989. J Pharmacol. Exp. Ther. 49 ; 6280-6284 ; Frances et al, 1992. J Pharmacol. Exp. Ther. 262 ; 25-31) et ayant la même activité par voie systémique. Des études
10 de liaison ligand-récepteur aux opiacés réalisées in vitro ont montré que la M6G se liait aux récepteurs opioïdes et qu'elle était de 1 à 5 fois moins affine pour les récepteurs μ que la morphine (Christensen & Jorgensen 1987. Pharmacol Toxicol. 60 :75-76 ; Frances et al, 1992 J Pharmacol. Exp. Ther. 262 ; 25-31).

15 D'autres métabolites de la morphine, en particulier la normorphine, ont montré une certaine activité analgésique. Cependant, ces autres métabolites sont présents en de faibles concentrations et ne sont pas susceptibles de contribuer de manière significative à l'effet global de la morphine.

20 Toutefois, malgré sa grande efficacité, le traitement de la douleur par la morphine s'accompagne d'effets secondaires indésirables tels que : dépression respiratoire, inhibition du transit intestinal, nausées, vomissements, et surtout syndrome de dépendance et induction de tolérance.

On a donc cherché à mettre au point d'autres substances actives, présentant une efficacité analgésique comparable à la morphine, mais n'ayant
25 pas tout ou partie de ses effets secondaires indésirables.

Bien entendu, en raison de son activité analgésique exposée plus haut, on a proposé d'utiliser la M6G en tant que substitut de la morphine.

On peut, à cet égard, faire référence à la demande internationale
30 WO 95/05831 visant l'utilisation d'une composition pharmaceutique pour administration orale, contenant de la M6G, pour le traitement de la douleur.

La demande internationale WO 99/64430 décrit une méthode pour la synthèse de la M6G et de ses intermédiaires. Le brevet US 5,621,087 décrit un nouveau procédé pour la préparation de la M6G ou de certains de ses dérivés.

La M6G, qui, on l'a vu, présente des propriétés analgésiques comparables à la morphine, a pour avantage de diminuer nausées et vomissements. Toutefois, la M6G ne contribue pas à la suppression d'autres effets indésirables de la morphine, à savoir la dépression respiratoire et le syndrome de dépendance (Osborne et al, 1992. *Br. J. Clin. Pharmac* 34 :130-138).

Le brevet US 6,150,524 décrit des procédés pour la synthèse d'autres dérivés de la morphine, qui sont dits présentés des propriétés analgésiques fortes et qui peuvent être administrés par voie orale.

Il est également connu que l'association d'un composé se liant aux récepteurs μ et d'un composé se liant aux récepteurs κ , présente un effet analgésique puissant sans les effets secondaires de dépendance physique et de dépression respiratoire (Rothman et al 2000 ; *J Subst Abuse Treat* 19 :277-281 ; Shook et al, 1990 *Am Rev Respir Dis* 142 :895-909).

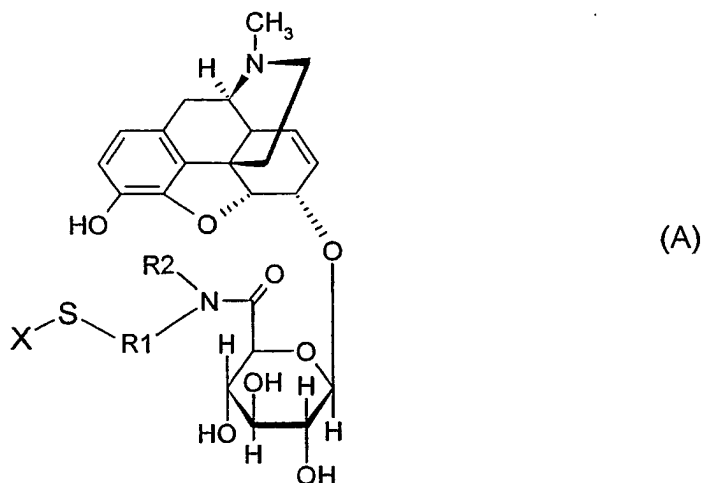
Cependant, à la connaissance des inventeurs, il n'existe pas d'analgésique d'une efficacité comparable à celle de la morphine ou de la M6G, mais qui ne présente pas, ou moins, d'effets secondaires, notamment en ce qui concerne la dépendance physique et la dépression respiratoire.

La présente invention a alors pour principal objet de nouveaux composés, dérivés de la M6G, qui permettent de résoudre ce problème. Plus particulièrement, les composés de l'invention présentent l'avantage de posséder une affinité pour les récepteurs κ plus grande que la M6G sans pour autant présenter une affinité réduite pour les récepteurs μ afin d'obtenir un composé ayant une activité analgésique puissante mais moins d'effets secondaires,

Dans le cadre de leurs travaux de recherche, les inventeurs ont ainsi pu déterminer que la modification de la M6G par substitution à l'aide d'un groupement porteur d'une fonction thiol ou d'un atome de soufre permet

d'augmenter de façon significative l'affinité pour les récepteurs κ sans pour autant diminuer celle pour les récepteurs μ .

L'invention concerne ainsi un composé de formule (A) :



5

dans laquelle :

- l'ensemble de l'entité ci-dessus, à l'exception du substituant X, est dénommé M6G-N(R₂)R₁-S-

- R₁ représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C₁-C₁₀, non substitué ou substitué par au moins un substituant, la chaîne alkyle étant éventuellement interrompue par un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, S et N ;

- R₂ représente l'hydrogène, un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C₁-C₅ ou un groupe aryle, hétéroaryle ou (C₁-C₅)alkylaryle, non substitué ou substitué par un alkyle en C₁-C₄ ;

- X représente l'hydrogène, un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- ou un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur ;

- les carbones asymétriques présents dans la formule (A) peuvent être de configuration R ou S.

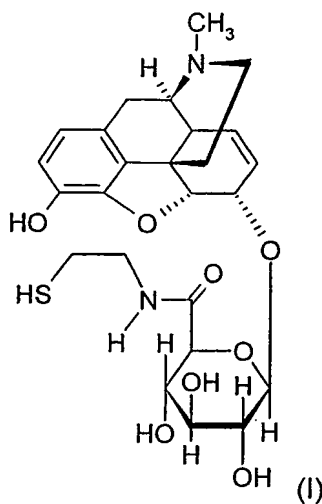
Lorsque R₁ représente un groupe alkyle substitué par un ou plusieurs substituants, le (ou les) substituant(s) est (sont) par exemple choisi(s) parmi : un groupe alkyle en C₁-C₅ ; un groupe amino ; un groupe COOR₃ ; un groupe CONR₃R₄, R₃ et R₄ dans les groupes COOR₃ ou CONR₃R₄

représentant indépendamment l'hydrogène, un groupe alkyle en C₁-C₂₀ éventuellement substitué, aryle, hétéroaryle ou alkylaryle; une cétone en C₁-C₂₀, de préférence en C₁-C₁₀; un aldéhyde en C₁-C₂₀, de préférence en C₁-C₁₀.

- 5 Lorsque R₂ représente un groupe aryle ou hétéroaryle monocyclique, celui-ci peut par exemple être choisi parmi les groupes phényle, thiophényle, pyridyle, pyrrolyle, pyrazolyle, furanyle, ou indolyle. Lorsque R₂ représente un groupe alkylaryle, celui-ci peut par exemple être le benzyle.

Des composés préférés aux fins de l'invention sont les composés de
10 formule (A) dans laquelle R₁ représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C₁-C₁₀, en particulier méthyle, éthyle, propyle ou butyle, non substitué ou substitué par au moins un substituant, la chaîne alkyle étant éventuellement interrompue par un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, S et N, R₂ représente l'hydrogène et X représente l'hydrogène.

- 15 Parmi ceux-ci, le composé de formule (A) dans laquelle R₁ représente -(CH₂)₂-, R₂ est l'hydrogène et X est l'hydrogène est préféré. Un tel composé représenté dans la structure (I) ci-dessous est appelé M6G-Cystéamide.



Des composés préférés sont ceux dans lesquels X représente un résidu M6G-N(R₂)R₁-S-. Dans ce cas, la structure (A) correspond à la forme oxydée de la structure (A) initiale, et se trouve dans ce cas sous forme de dimère.

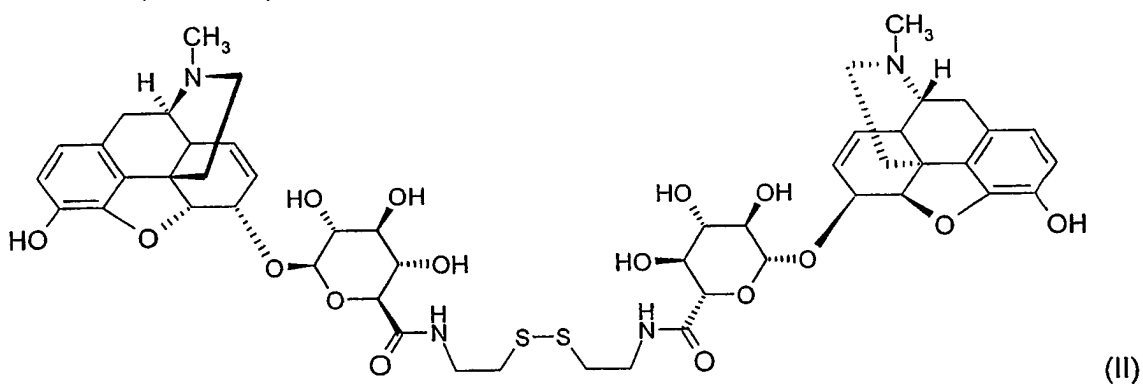
Les deux résidus M6G-N(R₂)R₁-S- constituant les composés de formule (A) sous forme de dimère peuvent être identiques ou différents.

Des composés de ce type particulièrement avantageux sont ceux dans lesquels les deux résidus M6G-N(R₂)R₁-S- sont identiques, et les composés dimères ont une structure symétrique.

Il a été montré dans la littérature que les liaisons disulfure, relativement stables dans le plasma, peuvent être clivées à l'intérieur des cellules pour redonner une fonction thiol, et de ce fait pourrait permettre d'améliorer les propriétés des molécules actives in vivo (G. Saito et al., Advanced Drug Delivery Reviews, 2003, 55, 199-215).

Des composés préférés selon l'invention sont des composés de formule (A) dans laquelle R₁ est tel que défini plus haut, R₂ est l'hydrogène et X est un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- tel que défini plus haut.

Un composé préféré de formule (A) dans laquelle R₁ représente $-(CH_2)_2-$, R₂ est l'hydrogène et X est un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- dans lequel R₁ = (CH₂)₂ et R₂ est l'hydrogène, représenté dans la structure (II) ci-dessous est appelé M6G-Cya-Cya-M6G. Le composé (II) est la forme oxydée, donc dimérisée, du composé (I).



D'autres composés avantageux de formule (A) sont, par exemple, ceux dans lesquels :

- R₁ représente un groupe $-CH(COOR_3)-CH_2-$ dans lequel R₃ représente l'hydrogène ou un alkyle, en particulier méthyle, éthyle, propyle ou butyle, R₂ représente l'hydrogène et X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- dans lequel R₁ = $-CH(COOR_3)-CH_2-$ dans lequel R₃ est tel que défini ci-dessus et R₂ est l'hydrogène;

- R_1 représente un groupe $-\text{CH}(\text{CONR}_3\text{R}_4)-\text{CH}_2-$ dans lequel R_3 et R_4 représente l'hydrogène ou un alkyle, en particulier méthyle, éthyle, propyle ou butyle, R_2 représente l'hydrogène et X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R_2) R_1 -S- dans lequel $R_1 = -\text{CH}(\text{CONR}_3\text{R}_4)-\text{CH}_2-$ dans lequel R_3 et R_4 sont tels que défini ci-dessus et R_2 est l'hydrogène;

- R_1 représente un groupe $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ dans lequel R_3 représente l'hydrogène ou un alkyle, en particulier méthyle, éthyle, propyle ou butyle, R_2 représente l'hydrogène et X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R_2) R_1 -S- dans lequel $R_1 = -\text{CH}(\text{COOR}_3)-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ dans lequel R_3 est tel que défini ci-dessus et R_2 est l'hydrogène;

- R_1 représente un groupe $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R}_5)-\text{CH}_2-$, dans lequel R_3 représente hydrogène ou un alkyle, en particulier méthyle, éthyle, propyle ou butyle, R_5 représente $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOR}_3$ dans lequel R_3 est tel que défini ci-dessus, R_2 représente l'hydrogène et X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R_2) R_1 -S- dans lequel $R_1 = -\text{CH}(\text{COOR}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R}_5)-\text{CH}_2-$ dans lequel R_3 et R_5 sont tels que définis ci-dessus et R_2 représente l'hydrogène .

D'autres composés intéressants sont ceux dans lesquels X représente un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur.

En effet, il a été montré dans la littérature que la conjugaison d'une molécule organique d'intérêt biologique avec un poly(éthylène glycol) permettait d'augmenter la demi-vie plasmatique de cette molécule (R.B. Greenwald et al., Advanced Drug Delivery Reviews, 2003, 55, 217-250).

De préférence, on utilisera un bras espaceur ayant la formule $\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$ dans laquelle $n=0$ à 4, de préférence 2.

On peut également utiliser d'autres types de bras espaceurs, tels que par exemple un radical organique bivalent, choisi parmi les groupes alkylène linéaires ou ramifiés en C_1 - C_{20} contenant éventuellement une ou plusieurs doubles liaisons ou triples liaisons et :ou contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes tels que O, N, S, P, ou un ou plusieurs groupe(s) carbamoyle ou carboxamido ; les groupes cycloalkylène en C_5 - C_8 et les

groupes arylène en C₆-C₁₄, lesdits groupes alkylène, cycloalkylène ou arylène étant éventuellement substitués par des groupes alkyle, aryle ou sulfonate.

Parmi les composés dans lesquels X représente un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur, les composés de formule (A) dans
5 lesquels R₁ représente un groupe -(CH₂)₂-, R₂ représente l'hydrogène et X représente un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur de formule -S-(CH₂)_n-NH-C(O)- dans laquelle n= 0 à 4, de préférence 2, et ledit polymère est un poly(éthylène glycol) (également dénommé PEG) de poids moléculaire (Mw) supérieur ou égal à 10000, sont des composés préférés selon l'invention .

10 L'invention concerne également, selon un aspect ultérieur, un procédé pour la préparation des composés de formule (A).

Ledit procédé comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (III) NHR₂-R₁-S-S-R₁-NHR₂, dans laquelle R₁ et R₂ sont tels que définis ci-dessus, en présence d'un
15 agent de couplage et à réduire *in situ* le pont disulfure à l'aide d'un agent réducteur si nécessaire (c'est-à-dire lorsque X= H dans la formule (A)).

De préférence, la réaction de la morphine-6-glucuronide avec le composé de formule (III) a lieu en milieu basique.

Pour la préparation des composés de formules (I) ou (II), on utilisera
20 par exemple un composé de formule (III) dans laquelle R₂ est l'hydrogène et R₁ représente un groupe -(CH₂)₂-, dénommé cystamine .

A titre d'agent de couplage, on peut citer les agents de couplages habituellement utilisés en synthèse peptidique, tels que le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), la
25 dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la DCC associée à l'hydroxybenzotriazole (DCC/HOBT) ou la diisopropylcarbodiimide associée à l'HOBT (DIPCDI/HOBT).

On utilisera de préférence l'agent de couplage en excès molaire d'environ 1,1 à 4 équivalents molaires pour 1 équivalent molaire de composé
30 de formule (III).

Le couplage est de préférence réalisé à température ambiante, dans un solvant polaire tel que par exemple le diméthylformamide (DMF), la N-méthylpyrrolidone (NMP), le dichlorométhane ou l'acétonitrile.

A titre d'agent réducteur, on peut citer par exemple la tris(2-carboxyéthyl)phosphine, la triphénylphosphine, la tris(hydroxyméthyl)-phosphine ou le dithiothréitol.

On utilisera de préférence l'agent réducteur en excès molaire d'environ 1,1 à 5 équivalents.

La réduction a lieu de préférence à température ambiante et à un pH inférieur à 7.

Selon un autre aspect de l'invention, le composé de formule (A) dans laquelle $X = H$ peut être obtenu par un procédé comprenant les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (IV) NHR_2-R_1-SH , dans laquelle R_1 et R_2 sont tels que définis ci-dessus, en présence d'un agent de couplage et à réduire *in situ* les sous-produits d'oxydation à l'aide d'un agent réducteur.

De préférence, la réaction de la morphine-6-glucuronide avec le composé de formule (IV) a lieu en milieu basique.

On peut notamment utiliser un composé de formule (IV) dans laquelle R_2 est l'hydrogène et R_1 représente un groupe $-(CH_2)_2-$, dénommé cystéamine. A titre d'exemples de composés de formule (IV), on peut également citer la cystéine méthyl ester, pénicillamine ou la glutathione.

A titre d'agent de couplage, on peut utiliser les agents de couplages habituellement utilisés en synthèse peptidique, tels que ceux cités ci-dessus.

On utilisera de préférence l'agent de couplage en excès molaire d'environ 1,1 à 2 équivalents molaires pour 1 équivalent molaire de morphine-6-glucuronide.

Le couplage est de préférence réalisé à température ambiante, dans un solvant polaire tel que par exemple le diméthylformamide (DMF), la N-méthylpyrrolidone (NMP), le dichlorométhane ou l'acétonitrile.

L'agent réducteur peut être choisi parmi les agents réducteurs habituellement utilisés en chimie peptidique tels que ceux cités ci-dessus.

On utilisera de préférence l'agent réducteur en quantité d'environ 0,5 à 5 équivalents molaires.

La réduction a lieu de préférence à température ambiante et à un pH inférieur à 7.

5 L'invention concerne également une composition pharmaceutique contenant à titre de principe actif un composé de formule (A) tel que décrit ci-dessus ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, et au moins un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Par " sel pharmaceutiquement acceptable", on entend par exemple
10 et de manière non limitative un acétate, un sulfate ou un chlorhydrate.

Avantageusement, la composition pharmaceutique selon l'invention se présentera sous une forme appropriée pour une administration :

- par voie parentérale, comme par exemple, sous forme de préparations injectables par voie sous-cutanée, intraveineuse ou
15 intramusculaire;

- par voie orale, comme par exemple, sous forme de comprimés enrobés ou non, de gélules, de poudres, de granulés, de suspensions ou de solutions orales. Une telle forme pour l'administration par voie orale peut être
20 formes à libération prolongée ou retardée sont décrites, par exemple, dans les demandes EP 253 104 ou EP 576 643 ;

- par voie rectale, comme par exemple, sous forme de suppositoires ;

- par voie topique, notamment transdermique, comme par exemple,
25 sous la forme de " patch ", de pommade ou de gel.

- par voie intranasale, comme par exemple sous forme d'aérosols et " sprays ",

- par voie perlinguale,

- par voie intraoculaire.

30 Le véhicule pharmaceutiquement acceptable peut être choisi parmi les véhicules utilisés de manière classique selon chacun des modes d'administration .

L'invention concerne également l'utilisation d'un composé de formule (A) ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables pour la fabrication d'un médicament utile pour le traitement de la douleur, en particulier pour le traitement de douleurs aiguës ou des douleurs chroniques, de douleurs neuropathiques, musculaires, osseuses, post-opératoires, de la migraine, les douleurs du cancer, les lombalgies, les douleurs arthrosiques, les douleurs associées au diabète ou les douleurs associées au SIDA.

L'invention est illustrée de manière non limitative par les exemples ci-dessous.

10

Exemples :

A. synthèses

Les réactions ont été suivies par chromatographie liquide haute pression (HPLC) analytique en phase inverse et Spectrométrie de Masse (MS). Les puretés et l'identité des composés obtenus sont confirmées par HPLC analytique en phase inverse et par spectrométrie de masse. Les différentes voies de synthèse sont réalisées selon le schéma représenté sur la figure 1. Les structures des composés synthétisés sont représentées sur les figures 1 à 3.

20

Exemple 1 : synthèse de la M6G-Cystéamide

Les différentes voies de synthèse sont réalisées selon le schéma représenté sur la figure 1.

Synthèse par couplage avec la cystéamine

Dans un réacteur (tube falcon) on a introduit 4 équivalents molaires de cystéamine sous sa forme chlorhydrate dans du diméthylformamide (DMF) à 200 g/l et 4 équivalents molaires de diisopropyléthylamine (DIEA). On a additionné 1 équivalent molaire de M6G en poudre, 1,2 équivalents molaires de benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP) préalablement solubilisé dans du DMF à 680 g/l, puis on a vérifié que le pH était toujours basique. On a laissé réagir pendant 3 h sous agitation à température ambiante.

On a alors réduit le pont disulfure des sous-produits d'oxydation générés lors du couplage en milieu basique, par la Tris(2-carboxyéthyl)phosphine sous sa forme chlorhydrate (TCEP) (0,72 équivalent molaire) à 150 g/l dans un mélange (acétonitrile/H₂O (50/50), acide trifluoroacétique 0,1%). Après 12 h de réaction sous agitation, le produit brut est alors purifié par HPLC préparative .

On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cystéamide : $[M+H]^+ = 521,4$ - $M_{sel\ TFA} = 634$ - Rdt = 66% - Pureté 95%.

10 Synthèse par couplage avec la cystamine

Dans un réacteur (tube falcon) on a introduit 2 équivalents molaires de cystamine sous sa forme chlorhydrate dans du DMF à 30 g/l, puis on a ajouté 1 équivalent molaire de M6G dihydrate et 4 équivalents molaires de DIEA. On a vérifié que le pH était basique (≥ 9). On a additionné goutte à goutte en refroidissant par un bain de glace, 1,2 équivalents molaires de PyBOP préalablement solubilisé dans du DMF à 230 g/l. On a laissé réagir pendant 3 h sous agitation. On a alors réduit le pont disulfure par la Tris(2-carboxyéthyl)phosphine (2,5 équivalents molaires) à 215 g/l dans (H₂O - acide trifluoroacétique 0,1%). Après 30 min de réaction sous agitation, le produit brut est alors purifié par HPLC préparative.

On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cystéamide : $[M+H]^+ = 521,2$ - $M_{sel\ TFA} = 634$ - Rdt = 93% - Pureté 98%.

Exemple 2 : synthèse de la M6G-Cya-Cya-M6G

25 Les différentes voies de synthèse sont réalisées selon le schéma représenté sur la figure 1.

Synthèse par couplage avec la cystamine

Dans un réacteur (tube falcon) on a solubilisé 1 équivalent molaire de cystamine sous sa forme chlorhydrate dans du DMF à 15 g/l, puis on a ajouté 5 équivalents molaires de DIEA et 2 équivalents molaires de M6G dihydrate. On a additionné goutte à goutte en refroidissant par un bain de glace, 2,4 équivalents molaires de PyBOP préalablement solubilisé dans du

DMF à 230 g/l. On a laissé réagir pendant 12 h sous agitation. Le produit brut est purifié par HPLC .

On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cya-Cya-M6G: $[M+H]^+ = 1035,7$
- $M_{\text{sel TFA}} = 1266$ - Rdt = 80% - Pureté 98%.

5

Synthèse par oxydation de la M6G-Cystéamide

Dans un réacteur (tube falcon) on a solubilisé la M6G-Cystéamide dans une solution de (diméthylsulfoxyde 20% - tampon aqueux Tris 200 mM pH=8) à 90 g/l, puis on a laissé réagir pendant 48 h sous agitation. Le produit
10 brut est purifié par HPLC .

On a obtenu, après lyophilisation, le produit M6G-Cya-Cya-M6G :
 $[M+H]^+ = 1040,1$ - $M_{\text{sel TFA}} = 1266$ - Rdt = 95 % - Pureté 99%.

Exemple 3 : synthèse de la M6G-Cya-Cya-PEG20000

15 Couplage avec la cystamine

La synthèse de M6G-Cya-Cya est réalisée selon le schéma 1. Dans un réacteur (tube falcon) on a introduit 12 équivalents molaires de cystamine sous sa forme chlorhydrate dans du DMF à 65 g/l, puis on a ajouté 10 équivalents molaires de DIEA et 1 équivalent molaire de M6G dihydrate. On
20 a ajouté 1,05 équivalents molaires de PyBOP et agité vigoureusement pendant 5 minutes. On a laissé réagir pendant 1 h sous agitation. Le produit brut est purifié par HPLC .

On a obtenu, après lyophilisation, le produit M6G-Cya-Cya: $[M+H]^+ = 596,3$ -
 $M_{\text{sel TFA}} = 823$ - Rdt = 69% - Pureté 98%.

25

Couplage au PEG20000

Dans un ballon, on a introduit 1 équivalent molaire de polyéthylène glycol 20000 dans du toluène à 20 g/l, puis on a ajouté 23 équivalents molaires de 4-nitrophényl chloroformate et de DIEA. On a chauffé
30 pendant 12 h à 55°C. Le produit brut est purifié par cristallisation dans dichlorométhane/ éther diéthylique. On a obtenu le 4-nitrophényl-PEG-carbonate avec un rendement de l'ordre de 95%. Dans un ballon, on a introduit

1 équivalent molaire de 4-nitrophényl-PEG-carbonate dans du dichlorométhane à 250 g/l, puis on a ajouté 2 équivalents molaires de M6G-Cya-Cya dans du DMF à 40 g/l et 5 équivalents molaires de DIEA. On a agité pendant 12 h, précipité le produit brut à l'éther diéthylique puis purifié par cristallisation dans
5 dichlorométhane/ éther diéthylique .

On a obtenu le M6G-Cya-Cya-PEG20000 avec un rendement de l'ordre de 85%.

Exemple 4 : synthèse de la M6G-Cys-OEt

10 Dans un réacteur (tube falcon) on a introduit 4 équivalents molaires de cystéine éthyl ester sous sa forme chlorhydrate dans du DMF à 100 g/l et 4 équivalents molaires de DIEA. On a additionné 1 équivalent molaire de M6G en poudre, 1,05 équivalents molaires de PyBOP préalablement solubilisé dans du DMF à 109 g/l. On a laissé réagir pendant 2 h sous agitation.

15 On a alors réduit le pont disulfure des sous-produits d'oxydation, générés lors du couplage en milieu basique par 2 équivalents molaires de TCEP à 30 g/l dans un mélange (acétonitrile/H₂O-acide trifluoroacétique 0,1% 1/1). Après 1 nuit de réaction sous agitation, le produit brut est alors purifié par HPLC préparative .

20 On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cys-OEt: $[M+H]^+ = 593,5 - M_{\text{sel TFA}} = 706 - \text{Rdt} = 87\% - \text{Pureté } 98\%$.

Exemple 5 : synthèse de la M6G-Cys-DEA

25 Dans un réacteur (tube falcon) on a introduit 1 équivalent molaire de cystéine diéthyl amide sous sa forme trifluoroacétate dans du DMF à 77 g/l et 4 équivalents molaires de DIEA. On a additionné 1 équivalent molaire de M6G dihydrate en poudre, puis 1,05 équivalents molaires de PyBOP. On a laissé réagir pendant 1 h sous agitation.

30 On a alors réduit le pont disulfure des sous-produits d'oxydation par 2 équivalents molaires de TCEP à 30 g/l dans un mélange (H₂O-acide trifluoroacétique 0,1%). Après 1 h de réaction sous agitation, le produit brut est purifié par HPLC préparative .

On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cys-DEA: $[M+H]^+ = 620,2 - M_{\text{sel TFA}} = 733 - \text{Rdt} = 93\% - \text{Pureté} 98\%$.

5 **Exemple 6 : synthèse de M6G-Glu-S-S-Glu-M6G**

Estérification des fonctions acides de la glutathione :

Dans un réacteur (réacteur Wheaton) on introduit 1 équivalent molaire de glutathione oxydée dans du méthanol à 100 g/l et 0,1 équivalent molaire d'acide sulfurique. On chauffe le milieu réactionnel à 80 °C sous agitation
10 pendant 4 h, puis l'agitation est maintenue 15 h à température ambiante et le milieu est de nouveau chauffé à 80°C pendant 6 h. Le produit brut est alors purifié par HPLC préparative.

On obtient après lyophilisation la glutathione oxydée estérifiée: $[M+H]^+ = 669 - M_{\text{sel TFA}} = 896 - \text{Rdt} = 17\% - \text{Pureté} 76\%$.

15

Couplage de la M6G :

Dans un réacteur (réacteur Wheaton) 2 équivalents molaires de M6G dihydrate en poudre sont mis en suspension dans du DMF à 93 g/l. On ajoute 1 équivalent molaire de glutathione oxydée estérifiée, 2 équivalents molaires de
20 PyBOP et 4 équivalents molaires de DIEA. On laisse réagir 5 h sous agitation à température ambiante. Le milieu réactionnel est alors purifié par HPLC préparative.

Après lyophilisation on obtient le dimère M6G-Glu-S-S-Glu-M6G: $[M+H]^+ = 1555 - M_{\text{sel TFA}} = 1782 - \text{Pureté} 91\%$.

25

Exemple 7 : synthèse de la M6G-Glu-SH

Réduction du dimère M6G-Glu-S-S-Glu-M6G:

Dans un réacteur (tube falcon) on introduit 1 équivalent molaire de dimère M6G-Glu-S-S-Glu-M6G et 3 équivalents molaires de TCEP à 88 g/l d'un
30 mélange acétonitrile/H₂O (50/50), acide trifluoroacétique 0,1%. On laisse réagir 5 h sous agitation à température ambiante. Le brut réactionnel est alors purifié par HPLC préparative.

Après lyophilisation, on obtient le produit M6G-Glu-SH: $[M+H]^+ = 779$ - $M_{\text{sel TFA}} = 892$ – Rdt = 100% - Pureté 95%.

Exemple 8 : synthèse de M6G-(Cys-NBu₂)-S-S-(Cys-NBu₂)-

5 **M6G**

Couplage de la (Boc-Cys-OH)₂ avec la Di-n-butylamine :

Dans un réacteur (tube falcon) on introduit 1 équivalent molaire de (Boc-Cys-OH)₂ dans du DMF à 105 g/l, 2,2 équivalents molaires de Di-n-butylamine, 2,2 équivalents molaires de 2-(1-H-9-azabenzotriazole-1-yl)-1, 1, 3, 3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate (HATU) et 2,2 équivalents molaires de DIEA. On laisse réagir 60 minutes sous agitation à température ambiante.

Le groupe protecteur *tert*-butoxycarbonyl est clivé avec un mélange d'acide trifluoroacétique/triisopropylsilane (94/6) à 26 g/l. On laisse sous agitation pendant 3 h à température ambiante. Le milieu est alors dilué dans un mélange acétonitrile/H₂O (50/50) et lyophilisé puis purifié par HPLC préparative.

Après lyophilisation, on obtient le produit (H-Cys-NBu₂)₂ : $[M+H]^+ = 463$ - $M_{\text{sel TFA}} = 690$ – Rdt = 83% - Pureté 98%.

Couplage de la M6G :

20 Dans un réacteur, on introduit 2 équivalents molaires de M6G dihydrate dans du DMF à 99 g/l. On additionne 1 équivalent molaire de produit (H-Cys-NBu₂)₂, 4 équivalents molaires de DIEA et 2 équivalents molaires de PyBOP. On laisse sous agitation à température ambiante pendant 1 h. Le produit brut est alors purifié par HPLC préparative.

25 Après lyophilisation on obtient le dimère M6G-(Cys-NBu₂)-S-S-(Cys-NBu₂)-M6G: $[M+H]^+ = 1349$ - $M_{\text{sel TFA}} = 1576$ - Rdt=36% - Pureté 90%.

Exemple 9 : synthèse de la M6G-(Cys-NBu₂)-SH

Réduction du dimère M6G-(Cys-NBu₂)-S-S-(Cys-NBu₂)-M6G:

30 Dans un réacteur (tube falcon) on introduit 1 équivalent molaire de M6G-(Cys-NBu₂)-S-S-(Cys-NBu₂)-M6G et 3 équivalents molaires de TCEP à 85 g/l d'un mélange acétonitrile/H₂O (50/50), acide trifluoroacétique 0,1%.

Après 4 h de réaction sous agitation à température ambiante, le brut réactionnel est purifié par HPLC préparative.

Après lyophilisation, on obtient le produit M6G-(Cys-NBu₂)-SH: $[M+H]^+ = 676$ - $M_{\text{sel TFA}} = 789$ - Rdt=85.8% - Pureté 93%.

5

Exemple 10 : synthèse de la M6G-Cys-OMe

Dans un réacteur (tube falcon) on introduit 2 équivalents molaires de cystine diméthyl ester sous forme chlorhydrate dans du DMF à 68 g/l et 4 équivalents molaires de DIEA. On laisse sous agitation pendant 2 h à température ambiante. On additionne 1 équivalent molaire de M6G dihydrate en poudre et 1,2 équivalents molaires de PyBOP. On laisse réagir pendant 3 h sous agitation à température ambiante. On réduit alors le pont disulfure par 2 équivalents molaires de TCEP à 11,5 g/l dans un mélange H₂O/acide trifluoroacétique 0,1%. On laisse agiter une nuit à température ambiante. Le produit brut est purifié par HPLC préparative.

On obtient après lyophilisation le produit M6G-Cys-OMe : $[M+H]^+ = 579$ - $M_{\text{sel TFA}} = 692$ - Rdt = 83% - Pureté 98%.

Exemple 11 : synthèse de la M6G-Cys-OH

Dans un réacteur on introduit 1 équivalent molaire de M6G-Cys-OMe dans de l'eau à 69 g/l et 3 équivalents molaires d'hydroxyde de lithium. On laisse réagir sous agitation à température ambiante pendant une nuit.

On réduit le pont disulfure du sous-produit d'oxydation par 3 équivalents molaires de TCEP à 30 g/l dans un mélange H₂O/acide trifluoroacétique 0,1%.

On laisse sous agitation pendant 30 min à température ambiante. Le produit brut est alors purifié par HPLC préparative.

Après lyophilisation on obtient le produit M6G-Cys-OH : $[M+H]^+ = 565$ - $M_{\text{sel TFA}} = 678$ - Rdt = 42% - Pureté 98%.

30

B : Etude de l'effet analgésique

Pour cette étude, on a utilisé le test dit de " tail flick ".

Ce test consiste à placer la queue d'une souris devant une source

d'infrarouge à un temps donné après l'administration du produit testé, pris comme temps 0. La lumière est focalisée sur la surface ventrale de la queue de façon à produire une température de surface de 55°C. On mesure alors le temps de latence (temps de réaction) entre l'administration du produit testé et le moment où la souris bouge la queue.

Les composés étudiés, à savoir la M6G, la morphine et les dérivés selon l'invention ont été administrés par voie intraveineuse à des doses de 0,25 à 5 mg/kg équivalents (5 à 10 souris par groupe). Trois mesures ont été faites avant administration du produit testé pour avoir un temps de base. Le temps de latence pour une même souris a été mesuré à différents temps allant de 15 min à 360 min après l'injection du produit. Un temps maximum de 10 s a été choisi comme temps maximum de réaction.

Les résultats obtenus sont représentés par les courbes des figures 4 à 12, sur lesquelles figurent en abscisse, le temps de la mesure (min), et en ordonnée, le temps de réaction (s). Les doses de produits testés sont exprimées en mg équivalents de M6G.

Les symboles suivants sont utilisés dans les figures pour les différents dosages :

- Figure 4 (activité du dérivé M6G-Cys-DEA)
 - ◆- 2,5mg /kg eq ; -▲- 1 mg /kg eq ; -●- 0,4 mg /kg eq
- Figure 5 (activité du dérivé M6G-Cystéamide)
 - ◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq ;
- Figure 6 (activité du dérivé M6G-Cya-Cya-PEG)
 - ◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq ;
- Figure 7 (activité du dérivé M6G-Cys-OEt)
 - ◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq
- Figure 8 (activité du dérivé M6G-Cya-Cya-M6G)
 - ◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq
- Figure 9 (activité du dérivé M6G-Cys-OH)
 - ◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq
- Figure 10 (activité du dérivé M6G-Glu-SS-Glu-M6G)

-◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1 mg /kg eq

- Figure 11 (activité de la morphine)

-◆- 5 mg /kg eq ; -▲- 2,5 mg /kg eq ; -●- 1,75 mg /kg eq

-■- 1mg/kg

5 - Figure 12 (activité de la M6G)

-◆- 1 mg /kg eq ; -▲- 0,5 mg /kg eq ; -●- 0,25 mg /kg eq

-■- 3 mg/kg

Les résultats montrent que les dérivés de la M6G selon l'invention
10 ont une activité analgésique au moins similaire à la M6G et à la morphine. En effet, la ED₅₀, dose qui induit 50% d'effet analgésique, est comprise entre 0,3 et 2,5 mg éq./kg pour les dérivés selon l'invention, à comparer respectivement à 0,55 et 2,65 pour la M6G et la morphine.

De plus, on observe que pour la plupart des dérivés selon l'invention,
15 l'activité analgésique dure beaucoup plus longtemps. En effet, pour la M6G et la morphine, la durée d'action est d'environ 100 minutes alors que par exemple pour M6G-Cya-Cya-M6G, la durée d'action est de 360 minutes.

C : étude de l'affinité aux récepteurs opioïdes

20 **C.1/ Mode opératoire**

On a comparé l'affinité de la M6G et de la morphine à celles des dérivés de M6G selon l'invention pour les récepteurs opioïdes μ (mu) et κ (kappa).

Pour déterminer l'affinité aux récepteurs μ , des homogénats de
25 membrane du cortex cérébral du rat (200 μ g de protéine) ont été incubés avec soit la M6G, ou la morphine ou le composé selon l'invention et 1 nM de [³H][D-Ala², N-MePhe⁴, Gly(ol)⁵]enképhaline (DAMGO) pendant 60 min à 22°C dans un tampon contenant 50 mM Tris-HCl [pH 7,7].

Pour déterminer l'affinité aux récepteurs κ , des homogénats de
30 membrane de cervelet du cobaye (250 μ g de protéine) ont été incubés avec soit la M6G, ou la morphine ou le composé selon l'invention et 0,7 nM [³H]U

69593 (80 min à 22°C) dans un tampon contenant 50 mM Tris-HCl [pH 7,4], 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA. On a utilisé des concentrations en M6G, en morphine et en composé selon l'invention de 10⁻¹⁴ à 10⁻⁶ M.

La liaison non spécifique a été déterminée grâce à l'addition aux ligands marqués de naloxone 10 µM.

Après incubation, les échantillons ont été filtrés sur des fibres de verre (GF/B, Packard) préalablement incubées avec 0,3% de polyéthylèneimine et rincées plusieurs fois avec 50 mM de Tris-HCl froid en utilisant un " 96-sample cell harvester " (Unifilter, Packard). Les filtres ont été ensuite séchés et la radioactivité comptée.

C.2/ Résultats

Les résultats sont rapportés dans le tableau 1 ci-dessous .

15

Tableau 1 : Affinité aux récepteurs µ et κ

(K_i exprimé en nM).

Composé	récepteurs µ	récepteurs κ
Morphine	12,43	155,15
M6G	13,63	223,91
M6G-Cystéamide	2,35	4,49
M6G-Cys-OMe	1,04	14,02
M6G-Cys-OEt	1,17	11,24
M6G-Cys-DEA	0,36	1,90
M6G-Cya-Cya-M6G	0,38	6,22
M6G-Cya-Cya-PEG20000	0,92	0,72

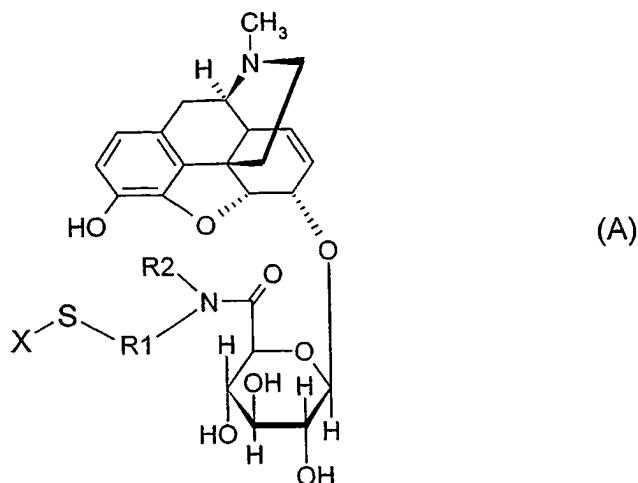
Les résultats montrent que :

- la M6G se lie aux récepteurs µ avec un K_i= de 13,63 nM indiquant une affinité pour ces récepteurs. En revanche, la valeur de K_i pour les récepteurs κ, de l'ordre de 224 nM indique une faible affinité pour ces récepteurs.

- l'affinité des composés selon l'invention pour les récepteurs κ (K_i = 0,72 à 14,02) est augmentée de façon spectaculaire par rapport à celle de la M6G (jusqu'à 310 fois), du fait de la modification chimique, sans que l'affinité pour les récepteurs μ ne diminue. On observe même une augmentation de
5 cette affinité pour les récepteurs μ d'un facteur 10 environ.

REVENDICATIONS

1. Composé de formule (A) :



5 dans laquelle :

- l'ensemble de l'entité ci-dessus, à l'exception du substituant X, est dénommé M6G-N(R₂)R₁-S-

- R₁ représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C₁-C₁₀, non substitué ou substitué par au moins un substituant, la chaîne alkyle étant éventuellement interrompue par un ou plusieurs hétéroatomes choisis parmi O, S et N ;

- R₂ représente l'hydrogène, un groupe alkyle linéaire ou ramifié en C₁-C₅ ou un groupe aryle, hétéroaryle ou (C₁-C₅) alkylaryle, non substitué ou substitué par un alkyle en C₁-C₄ ;

- X représente l'hydrogène, un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- ou un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur ;

- les carbones asymétriques présents dans la formule (A) peuvent être de configuration R ou S,

ainsi que ses sels pharmaceutiquement acceptables.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que

- R₁ et R₂ sont tels que définis dans la revendication 1 ;

- X représente un résidu M6G-N(R₂)R₁-S-, les deux résidus M6G-N(R₂)R₁-S- constituant les composés de formule (A) sous forme de dimère étant identiques ou différents.

3. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que
- R_1 est tel que défini dans la revendication 1;
 - R_2 représente l'hydrogène, et
 - X représente l'hydrogène.
- 5 4. Composé selon les revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que
- R_1 est tel que défini dans la revendication 1;
 - R_2 représente l'hydrogène, et
 - X représente un résidu $M6G-N(R_2)R_1-S-$ dans lequel R_1 et R_2 sont tels que définis ci-dessus.
- 10 5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que R_1 représente un groupe alkyle substitué par un ou plusieurs substituants choisi(s) parmi : un groupe alkyle en C_1-C_5 ; un groupe amino ; un groupe $COOR_3$; un groupe $CONR_3R_4$, R_3 et R_4 dans les groupes $COOR_3$ ou $CONR_3R_4$ représentant indépendamment l'hydrogène, un groupe
- 15 alkyle en C_1-C_{20} éventuellement substitué, aryle, hétéroaryle ou alkylaryle; une cétone en C_1-C_{20} et un aldéhyde en C_1-C_{20} .
6. Composé selon les revendications 1 ou 3, caractérisé en ce que R_1 représente $-(CH_2)_2-$, R_2 est l'hydrogène et X est l'hydrogène.
7. Composé selon l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 4,
- 20 caractérisé en ce que R_1 représente $-(CH_2)_2-$, R_2 est l'hydrogène et X est un résidu $M6G-N(R_2)R_1-S-$ dans lequel $R_1 = -(CH_2)_2-$ et R_2 est l'hydrogène.
8. Composé selon l'une quelconque des revendications 1, 2 ou 4, caractérisé en ce que
- R_1 représente un groupe $-CH(COOR_3)-CH_2-$ dans lequel R_3
- 25 représente l'hydrogène, méthyle, éthyle, propyle ou butyle,
- R_2 représente l'hydrogène,
 - X représente l'hydrogène ou un résidu $M6G-N(R_2)R_1-S-$ dans lequel $R_1 = -CH(COOR_3)-CH_2-$ dans lequel R_3 est tel que défini ci-dessus et R_2 est l'hydrogène.
- 30 9. Composé selon l'une des revendications 1 ou 5, caractérisé en ce que

- R₁ représente un groupe $-\text{CH}(\text{CONR}_3\text{R}_4)-\text{CH}_2-$ dans lequel R₃ et R₄ représente l'hydrogène, méthyle, éthyle, propyle ou butyle,
- R₂ représente l'hydrogène,
- X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- dans lequel R₁ = $-\text{CH}(\text{CONR}_3\text{R}_4)-\text{CH}_2-$ dans lequel R₃ et R₄ sont tels que défini ci-dessus et R₂ est l'hydrogène.
10. Composé selon les revendications 1 ou 5, caractérisé en ce que
- R₁ représente un groupe $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ dans lequel R₃ représente l'hydrogène, méthyle, éthyle, propyle ou butyle,
- 10 - R₂ représente l'hydrogène
- X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- dans lequel R₁ = $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ dans lequel R₃ est tel que défini ci-dessus et R₂ est l'hydrogène.
11. Composé selon les revendications 1 ou 5, caractérisé en ce que
- 15 - R₁ représente un groupe $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R}_5)-\text{CH}_2-$, dans lequel R₃ représente hydrogène, méthyle, éthyle, propyle ou butyle et R₅ représente $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOR}_3$,
- R₂ représente l'hydrogène
- X représente l'hydrogène ou un résidu M6G-N(R₂)R₁-S- dans lequel R₁ = $-\text{CH}(\text{COOR}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}(\text{R}_5)-\text{CH}_2-$ dans lequel R₃ et R₅ sont tels que définis ci-dessus et R₂ représente l'hydrogène.
- 20 12. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que
- R₁ représente un groupe $-(\text{CH}_2)_2-$,
- R₂ représente l'hydrogène
- 25 - X représente un polymère lié au reste de l'entité par un bras espaceur de formule $-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$ dans lequel n=0 à 4 et ledit polymère est un polyéthylène glycol de poids moléculaire (Mw) supérieur ou égal à 10000.
13. Procédé de préparation d'un composé de formule (A) selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (III) $\text{NHR}_2-\text{R}_1-\text{S}-\text{S}-\text{R}_1-\text{NHR}_2$, dans laquelle R₁ et R₂ sont tels que

définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 11, en présence d'un agent de couplage, et à réduire le pont disulfure à l'aide d'un agent réducteur si nécessaire.

14. Procédé de préparation d'un composé de formule (A) selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, dans laquelle $X = H$, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à faire réagir la morphine-6-glucuronide avec un composé de formule (IV) NHR_2-R_1-SH , dans laquelle R_1 et R_2 sont tels que définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 12, en présence d'un agent de couplage et à réduire *in situ* les sous-produits d'oxydation à l'aide d'un agent réducteur.

15. Procédé selon l'une des revendications 13 ou 14, caractérisé en ce que l'agent de couplage est choisi parmi que le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), la dicyclohexylcarbodiimide (DCC), la DCC associée à l'hydroxybenzotriazole (DCC/HOBT) et la diisopropylcarbodiimide associée à l'HOBT (DIPCDI/ HOBT).

16. Procédé selon l'une des revendications 13 ou 14, caractérisé en ce que l'agent réducteur est choisi parmi la tris(2-carboxyéthyl)phosphine, la triphénylphosphine, la tris(hydroxyméthyl)-phosphine et le dithiothréitol.

17. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle contient un composé de formule (A) selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

18. Composition pharmaceutique selon la revendication 17, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme administrable par voie parentérale.

19. Composition pharmaceutique selon la revendication 17, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de préparation injectable par voie sous-cutanée, intraveineuse ou intramusculaire.

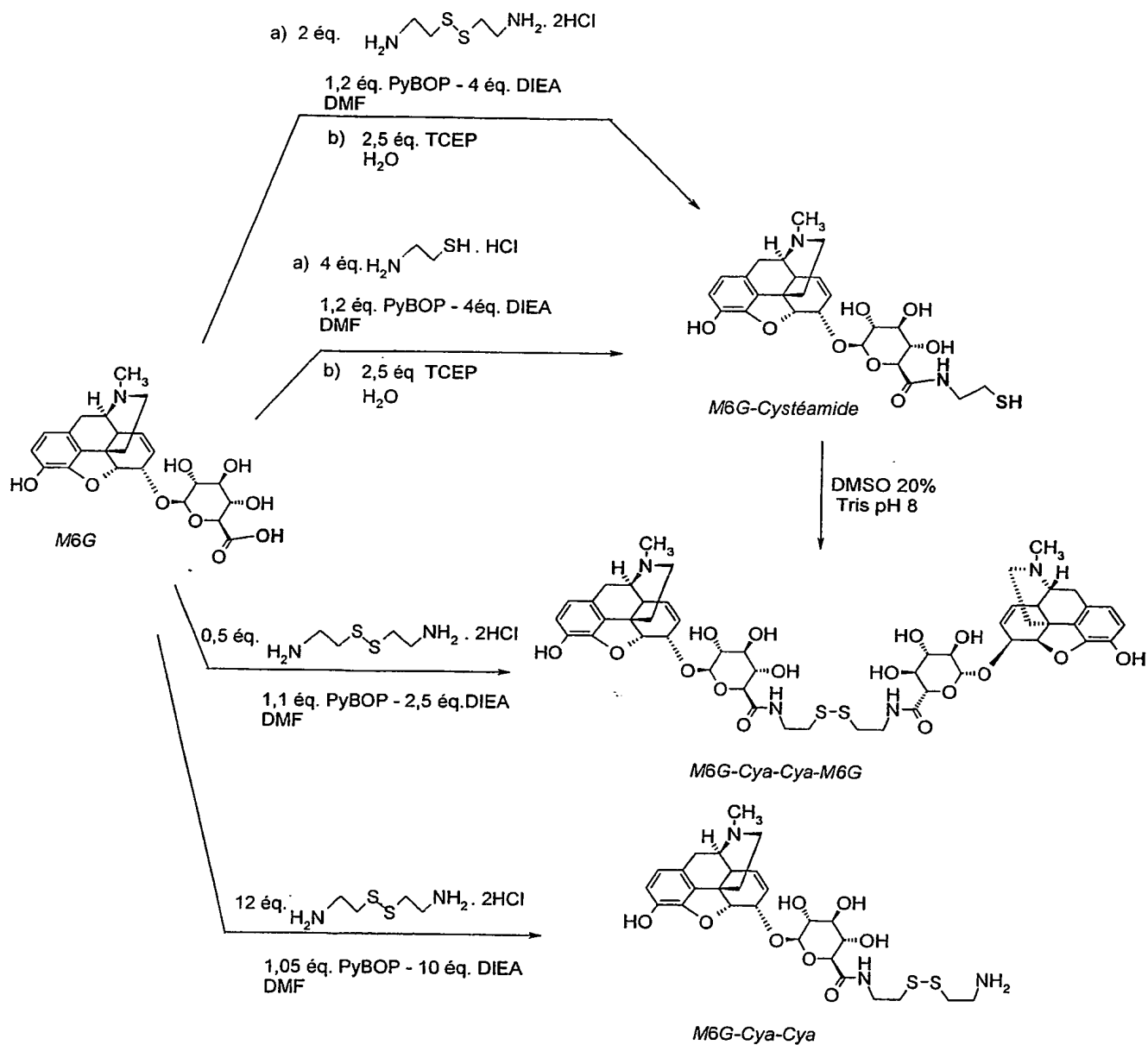
20. Composition pharmaceutique selon la revendication 19, caractérisée en ce qu'elle se présente sous une forme administrable par voie orale.

21. Composition pharmaceutique selon la revendication 20, caractérisée en ce qu'elle présente une activité prolongée ou retardée.

22. Utilisation d'un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou d'une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 17 à 21, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement de la douleur.

1/6

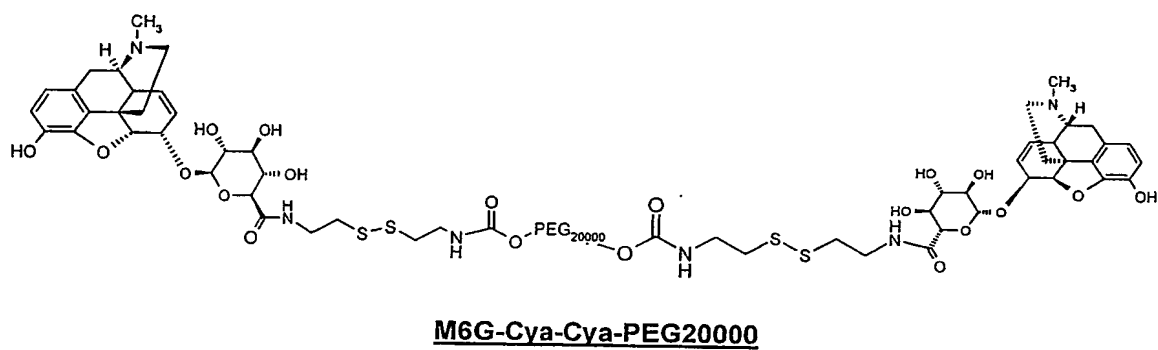
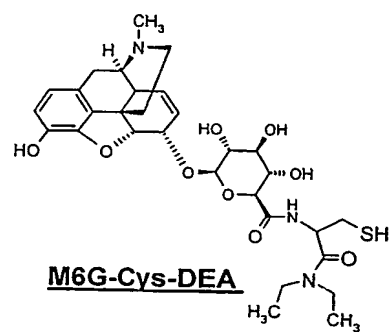
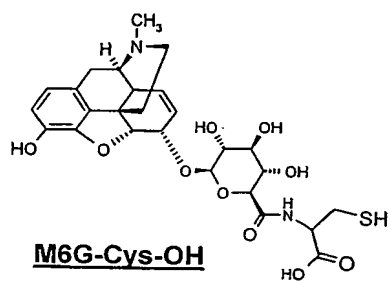
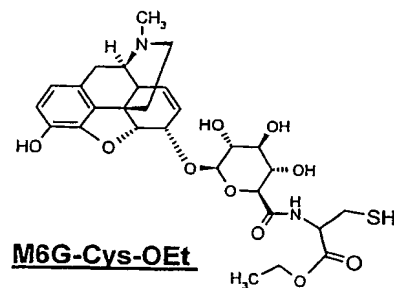
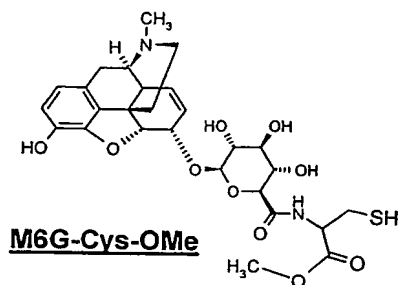
FIGURE 1



THIS PAGE BLANK (USP 10)

2/6

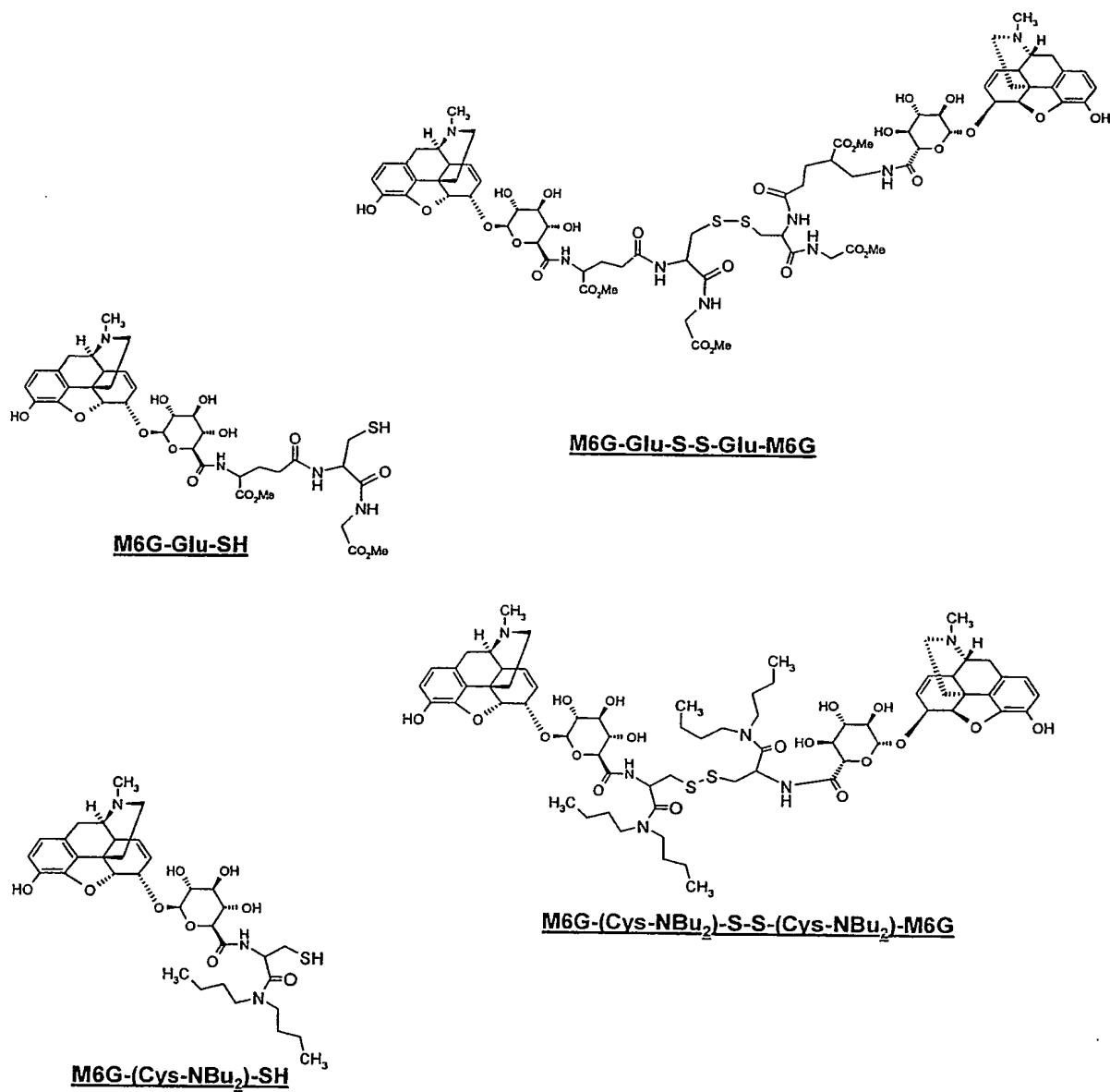
FIGURE 2



THIS PAGE BLANK (USPTO)

3/6

FIGURE 3



THIS PAGE BLANK (CSPTO)

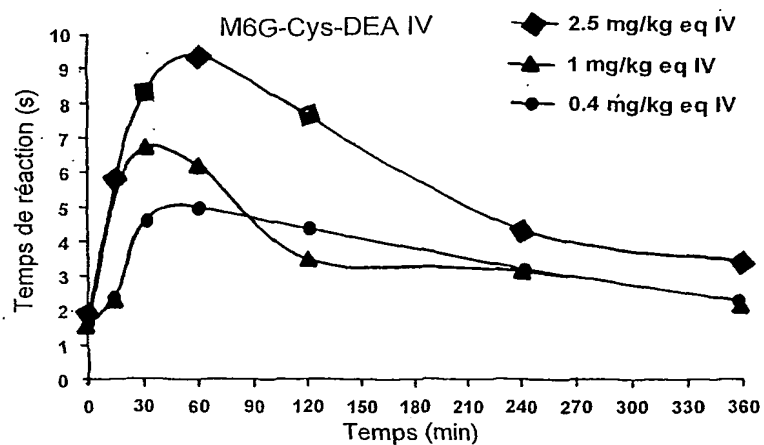


FIGURE 4

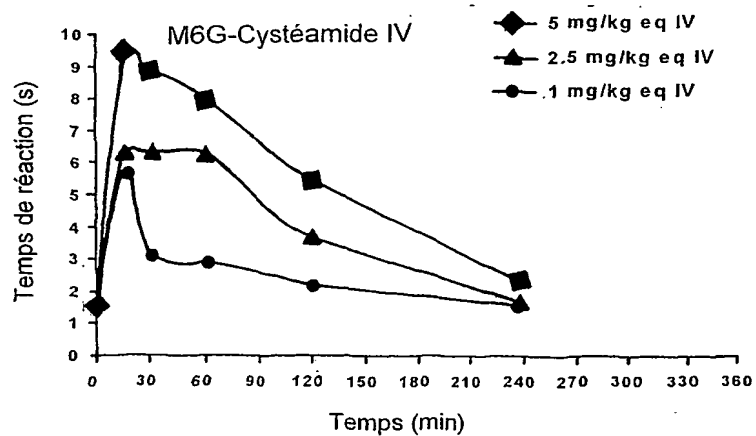


FIGURE 5

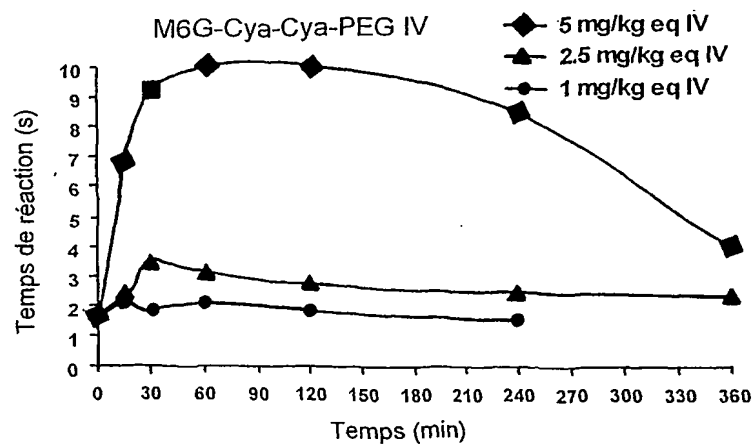


FIGURE 6

THIS PAGE BLANK (USPTO)

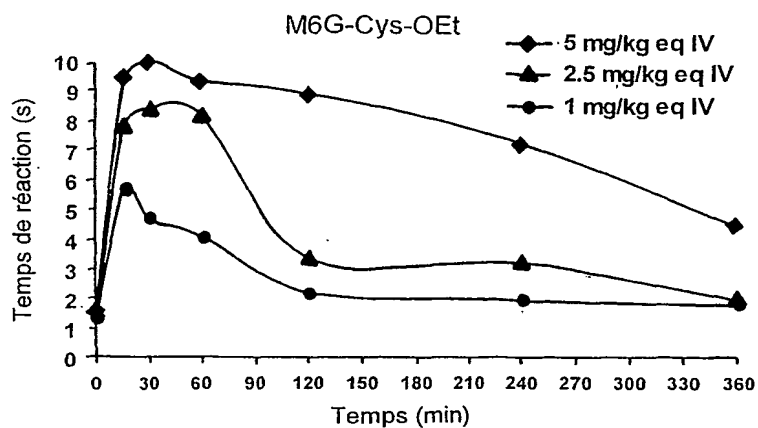


FIGURE 7

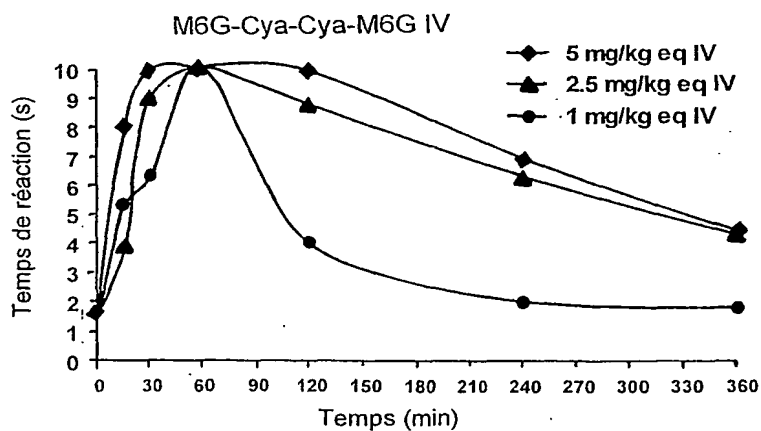


FIGURE 8

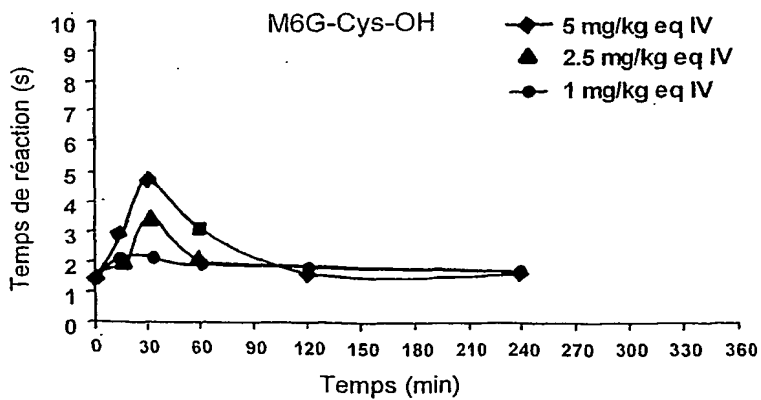


FIGURE 9

THIS PAGE BLANK (USPTO)

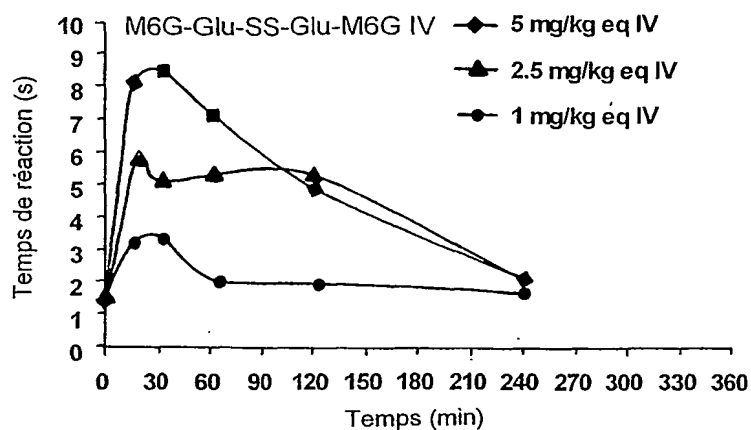


FIGURE 10

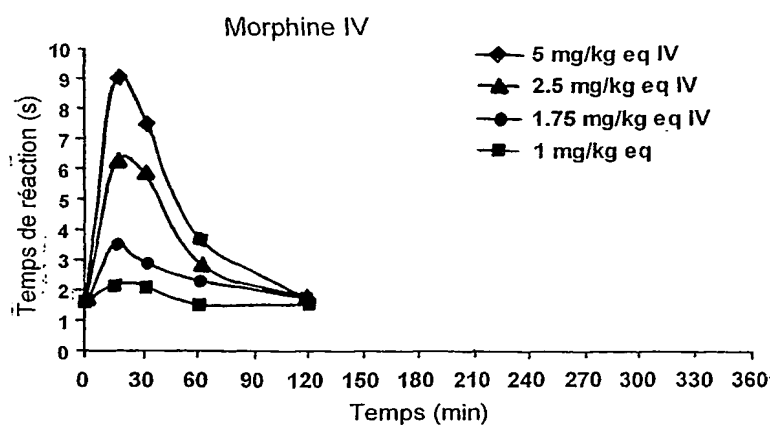


FIGURE 11

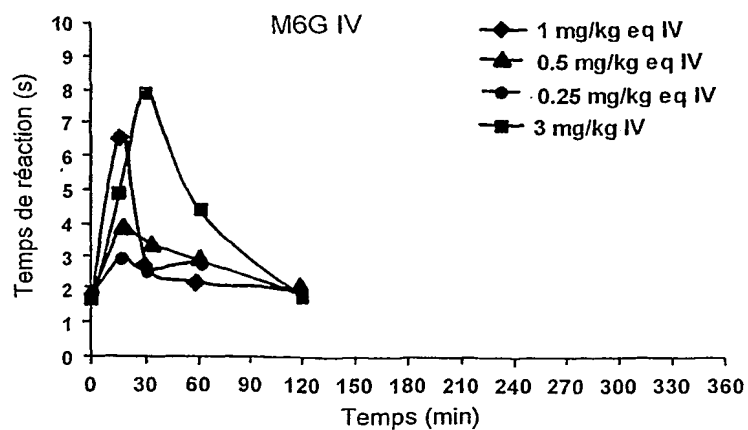


FIGURE 12

THIS PAGE BLANK (CONT.)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)